

家蝇对拟除虫菊酯农药的抗性机制

孙耘芹 袁家珪 李 晶 何凤琴 刘宝文 王 静 龚坤元

(中国科学院动物研究所, 北京)

摘要 本文对二氯苯醚菊酯和溴氰菊酯分别选择的高抗性家蝇 (*Musca domestica vicina*) 品系 2Cl-R 及 Dec-R 的抗性机制进行了研究。应用生物测定、增效剂、体内试验的表皮穿透作用、离体条件的解毒酶系活性的增加以及家蝇头部 ATP 酶活力的研究结果表明,两种拟除虫菊酯高抗性家蝇品系的表皮穿透性均比正常品系 NP 为慢,特别是 Dec-R 品系极慢。酯酶和多功能氧化酶及其末端的细胞色素 P-450 的活性在两个抗性品系中都比 NP 品系有不同程度的增高,但 2Cl-R 品系以氧化酶为主,而 Dec-R 品系似以酯酶占优势。Dec-R 品系的 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活力低于 NP 品系的 46%,而 2Cl-R 品系与 NP 品系相等。 $\text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活性在两个抗性品系中均高于正常品系。 $\text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶可能也是拟除虫菊酯的一个重要靶标部位。

关键词 家蝇 抗药性 酯酶 多功能氧化酶 细胞色素 P-450 ATP 酶 表皮穿透作用

拟除虫菊酯化合物目前已成为世界上最重要的一类农药。近年来,害虫对这类农药也产生了抗性,澳大利亚用拟除虫菊酯类农药防治棉铃虫 (*Heliothis armigera*) 已无效 (Murray 等, 1984)。在中国山东省几个重要棉区,从 1983 年开始用拟除虫菊酯农药能有效地防治棉蚜,但到 1985 年 6 月,拟除虫菊酯农药稀释 1000 倍,甚至几百倍都控制不住棉蚜的增殖(中国科学院动物研究所, 1985)。抗性的产生,将严重地影响到很多这类化合物的开发前景。以前对天然除虫菊酯和对光不稳定的拟除虫菊酯具有中、低等抗性的家蝇机制研究证明:降低表皮的穿透作用和靶标部位的不敏感性(即抗击倒因子, Kdr) (Farnham, 1973; Plapp, 1969) 是产生抗性的主要原因。但是,对于新的光稳定拟除虫菊酯,特别是对具有高抗性水平的二氯苯醚菊酯和具有氰基的溴氰菊酯的抗性机制研究较少。

鉴于上述原因,本文着重研究二氯苯醚菊酯和溴氰菊酯高抗性家蝇的抗性机制,为延长拟除虫菊酯类农药的使用寿命,制定正确的防治策略,以及为延缓和降低抗性的发展提供理论依据。

材 料 和 方 法

(一) 实验材料

1. 东方家蝇 (*Musca domestica vicina* Macq.) 正常家蝇品系 (NP) 为室内饲养,不接触任何杀虫剂。

二氯苯醚菊酯抗性品系 (2Cl-R) 为 1979 年由“南口”种群选育,并经室内进一

步用二氯苯醚菊酯处理培育。

溴氰菊酯抗性品系 (Dec-R) 为 1983 年在使用法国罗素·优克福公司产品 K-Othrin 的养鸭场内采集的抗性家蝇,并在实验室内继续选育。

2. 杀虫药剂及试剂 二氯苯醚菊酯为英国帝国公司产品,纯度为 92.4%;溴氰菊酯为法国罗素·优克福公司产品,纯度为 97.5%;艾氏剂和狄氏剂为法国汉诺威公司产品,含量均大于 99%;S, S, S-三丁基三硫代磷酸酯 (DEF), 纯度为 94%;氧化胡椒基丁醚 (Pb) 为 MGK 产品,工业级;双-对氯苯基乙醇 (DMC) 为 Aldrich 产品;牛血清蛋白 (BSA)、NADPH 为 Sigma 产品;其他生化试剂均为分析纯。

(二) 方法

1. 毒力测定

取羽化后第四天的雌蝇,用毛细管点滴器将药液滴于胸部背板,24 小时后检查死亡数,使用计算机计算致死中量 (LD_{50})。每次测定不少于三次重复。用增效剂 DEF 作试验时,每头家蝇用 10 微克量。用 Pb 时,每头正常家蝇用 2 微克,而抗性家蝇为 10 微克。所有增效剂溶液均在杀虫药剂处理前一小时用 1 微升量滴于家蝇胸部背板。处理后 24 小时检查结果,求增效值 (SR)。

2. 穿透研究

将药液滴于羽化后第四天雌蝇的胸部背板,2Cl-R 和 Dec-R 抗性家蝇品系所滴药量为 1 微克/蝇;NP 为 0.01 微克/蝇。处理后不同时间取样,用正己烷冲洗体表 3 次,每次 2 毫升,收集合并,加无水硫酸钠脱水 24 小时后,用气相色谱仪测定,计算体表存留量。

体内的测定是将冲洗后的家蝇进行匀浆,用正己烷抽提 3 次,每次 2 毫升,合并脱水,然后上气相色谱仪测定。

气相色谱条件为 Varian SP-3700 电子捕获检测器。5% SE-30/Chromsorb W AW DMCS 100 目的玻璃柱,长 2 米,内径 2 毫米。柱温 260℃,检测器温度 280℃,汽化室温度 280℃,载气流速 (N_2) 60 毫升/分。

3. 蛋白测定

采用 Lowry 等 (1951) 法,以牛血清蛋白作标准蛋白。

4. 酯酶制备及活性测定

(1) 制备:选羽化后四天的雌蝇,用含有 10^{-3} mol/L EDTA 的 0.04 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.0),于冰浴中进行匀浆。然后将匀浆液于 4℃ 进行 4500 g 离心 20 分钟,取上清液作为酯酶酶源。

(2) 酶活力测定:酯酶对底物 α -乙酸萘酯、 α -丙酸萘酯和 α -丁酸萘酯的活力测定,应用 Rosenbeury 和 Bernhard (1972) 法。反应体系的总体积是 3 毫升。底物 α -NA 等的终浓度为 10^{-3} mol/L。在岛津 UV-3000 紫外分光光度计上预保温 (27℃) 后,加入酶液 10 微升迅速混匀,在 234 nm 处连续记录反应速度,每个结果重复 2 次以上。

5. 多功能氧化酶的制备及萘羟化和环氧化反应测定采用袁家珪等法 (1987)。

6. 微粒体细胞色素 P-450 的制备及测定

(1) 制备:参照 Kulkarni 等 (1975) 方法,取羽化后 4—5 天的雌蝇腹部,在 0.1 mol/L KCl、0.05 mol/L Tris-HCl, pH 7.5 的缓冲液中以 20 头蝇腹/毫升匀浆,于 2℃,12100

g 离心 15 分钟。取上清液在 2℃, 105000 g 离心 1 小时, 将沉淀用 pH 7.5, 0.5 mol/L 磷酸缓冲液重新悬浮, 浓度为 25 头蝇腹/毫升。

(2) CO 差光谱测定: 参照 Omura 和 Sato (1964) 法, 在 2.5 毫升微粒体中加入数毫克连二亚硫酸钠, 将微粒体细胞色素还原 3—5 分钟后, 记录基线。然后以适当速度通入 CO 至饱和, 5 分钟后在岛津 UV-3000 分光光度计上测定 400—500 nm 波长范围内的差光谱。以 $\Delta O.D.$ 452—490 做为 CO 差光谱吸收值。

7. Na^+-K^+-ATP 酶的制备及活力测定

(1) 制备: 取羽化第四天的家蝇, 于 -20℃ 冷冻后分离头部。以每克家蝇头重加 2.5 毫升 75 mmol/L 咪唑-甘油 (V/V 为 1:1), pH 7.4 的溶液中研磨, 然后在 2℃ 下 10000 g 离心 20 分钟, 弃去沉淀, 同样条件下, 重新离心一次, 取上清液做为酶液。

(2) 活力测定: 参照 Jenner 和 Donnellan (1976) 方法, 取上述酶液 150 微升 (相当于 0.06 克蝇头), 加入到含或不含有乌本苷 (Ouabain) 的反应液中, 终浓度为 $MgCl_2$ 5 mmol/L、KCl 10 mmol/L、NaCl 120 mmol/L、乌本苷 1 mmol/L 或不含乌本苷。然后在 25℃ 中预保温 10 分钟, 加入底物 ATP (终浓度为 4 mmol/L), 起始反应。10 分钟后加入 0.5 ml 15% 三氯乙酸终止反应。按冯北元等 (1981) 方法测定反应中生成的无机磷含量, 以计算 ATP 酶活力。

结 果

(一) 毒力测定

2Cl-R、Dec-R 和 NP 家蝇品系对二氯苯醚菊酯和溴氰菊酯的 LD_{50} 值和抗性比值见表 1。2Cl-R 和 Dec-R 家蝇品系对其本身选择的拟除虫菊酯药剂有很高的抗性水平, 分别为正常品系的 3319.5 倍和 >16 万倍。

表 1 三种家蝇品系对几种杀虫剂的 LD_{50} 值及抗性比值

品 系	杀虫剂的 LD_{50} 和抗性比值			
	二氯苯醚菊酯		溴氰菊酯	
	LD_{50}^*	RR**	LD_{50}	RR
NP	0.0042	—	0.0006	—
2Cl-R	13.9419	3319.50	5.0841	8473.50
Dec-R	4.4240	1053.33	>100	>166666.67

* 微克/蝇单位 ** 抗性品系的 LD_{50} /NP 品系的 LD_{50}

(二) 增效剂

将 DEF、Pb 和 DMC 三种增效剂分别对虫体进行前处理后, 再测定二氯苯醚菊酯对拟除虫菊酯高抗性家蝇品系和 DDT 抗性品系的增效作用, 结果见表 2。Pb 对 2Cl-R、Dec-R 和 DDT-R 品系的增效比, 分别为 84.496、18.206 和 9.153。DEF 对上述三个品系的 SR 值, 分别为 5.485、1106 和 2.618。DMC 对它们的 SR 值均较小。试验结果表明, Pb 具有强烈抑制 2Cl-R 品系体内 MFO 的氧化作用, 增效作用显著, 表明该品系的抗性主要是由于多功能氧化酶的作用。而 DEF 却对 Dec-R 品系的增效作用突出, 可

表 2 三种增效剂对三种抗性家蝇品系的增效作用

增效剂	品		系			
	2Cl-R		Dec-R		DDT-R	
	LD ₅₀	SR*	LD ₅₀	SR	LD ₅₀	SR
无	13.942	—	4.424	—	1.016	—
Pb	0.165	84.496	0.243	18.206	0.111	9.153
DEF	2.542	5.485	0.004	1106.000	0.388	2.618
DMC	7.626	1.828	3.575	1.237	1.184	0.858

* SR = 杀虫剂单独的 LD₅₀ / 杀虫剂+Pb 的 LD₅₀

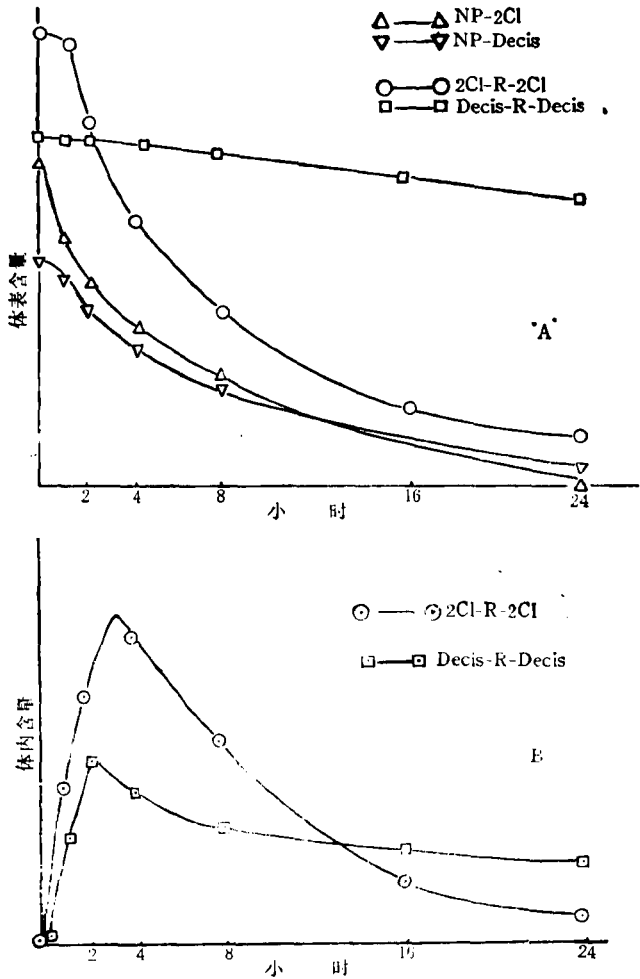


图 1 三种家蝇品系对二氯苯醚菊酯及溴氰菊酯的表皮渗透和吸收(渗透和吸收的剂量见表 3)
A. 体表存留; B. 体内含量

以肯定其抗性机制中酯酶起着主要作用。

(三) 穿透作用的研究

二氯苯醚菊酯和溴氰菊酯对三种家蝇品系的表皮渗透和吸收情况见表 3 及图 1。结果表明, 二氯苯醚菊酯和溴氰菊酯对 2 Cl-R 和 Dec-R 家蝇品系体壁表皮的穿透速度均慢于对 NP 品系的穿透速度。处理后 4 小时, 二氯苯醚菊酯在 2 Cl-R 家蝇品系体外的存留量为 315.1 ng/蝇, 是处理剂量的 74.14%。而溴氰菊酯在 Dec-R 品系体外的存留量为处理剂量的 96.7%; 24 小时后, 溴氰菊酯在体壁上仍残留有 77.97%。由此可见, 表皮渗透性的减低, 是两种拟菊酯抗性家蝇产生抗性的一个机制。尤其是溴氰菊酯对 Dec-R 品系的表皮渗透性降低, 极为突出。

(四) 解毒酶活性测定

1. 酯酶活性

三种家蝇品系的酯酶对三种不同 α -萘酯底物的米氏常数

表 3 二氯苯醚菊酯和溴氰菊酯对三种家蝇品系的表皮穿透和吸收情况

品系	药剂	体表存留量 (ng/蝇)							
		0	0.5	1	2	4	8	16	24 小时
NP	2Cl	10.83	9.85	8.10	6.66	6.55	3.32	—	痕迹
NP	Decis	10.34	10.58	10.11	7.18	6.51	4.32	—	1.80
2Cl-R	2Cl	522.60	521.50	501.8	416.20	315.10	221.10	111.30	92.37
Dec-R	Decis	759.70	762.80	749.8	752.70	735.40	701.90	667.50	592.37
		体内含量 (ng/蝇)							
2Cl-R	2Cl	0	2.53	11.85	17.25	22.01	14.13	5.21	3.06
Dec-R	Decis	0	1.53	2.18	3.98	3.13	2.97	2.27	1.66

(K_m) 和最大反应速度 (V_{max}) 动力学参数的比较结果见表 4。结果表明,以对三种底物的最大反应速度为标准,抗性品系酯酶活性均比正常品系的高。特别是 Dec-R 品系的 V_{max} 对 NP 品系的抗性比值达 3—4 倍之多。可见,酯酶活性的增高,可能是 Dec-R 品系的主要解毒抗性机制。该结果也与 DEF 增效的生物测定相一致。

从 K_m 值来看,Dec-R 品系的 K_m 值明显增加,即对底物的亲和力减小,但 2 Cl-R 品系对分子较小的底物乙酸 α -萘酯和丙酸 α -萘酯的 K_m 值则比正常品系为小,其 RR 值分别为 0.54 和 0.72,表明对底物的亲和力增大。而当底物为丁酸 α -萘酯时,2Cl-R 品系的 K_m 值又明显增大,即对底物的亲和力下降。由此可见,抗性品系家蝇尽管酶活性增加,但与底物的亲和力并不一定增大,大部分还有所下降。

表 4 三种家蝇品系酯酶对底物 α -NA、 α -NPr 和 α -NBu 的 K_m 及 V_{max} 比较

底物参数		品系				
		NP	Dec-R	RR	2 Cl-R	RR
α -NA	K_m	0.121 \pm 0.017	0.265 \pm 0.064	2.19	0.065 \pm 0.006	0.54
	V_{max}	0.635 \pm 0.039	2.795 \pm 0.431	4.40	0.884 \pm 0.031	1.39
α -NPr	K_m	0.078 \pm 0.007	0.229 \pm 0.101	2.94	0.056 \pm 0.010	0.72
	V_{max}	0.957 \pm 0.031	2.866 \pm 0.891	2.99	1.314 \pm 0.084	1.37
α -NBu	K_m	0.056 \pm 0.008	0.216 \pm 0.055	3.86	0.134 \pm 0.038	2.39
	V_{max}	0.683 \pm 0.033	2.981 \pm 0.505	4.36	1.519 \pm 0.238	2.22

单位: K_m (mol/L $\times 10^{-3}$)、 V_{max} (μ mol/L 小时⁻¹mg 蛋白⁻¹),±号后数值为标准误差
 α -NA: α -乙酸萘酯, α -NPr: α -丙酸萘酯, α -NBu: α -丁酸萘酯

2. 多功能氧化酶活性

两种拟除虫菊酯抗性家蝇在离体条件下,多功能氧化酶的活性均高于 NP 品系,见表 5 和表 6。对不同底物的氧化能力也有差别,其脱甲基活性大于环氧化活性。

3. 细胞色素 P-450 含量

拟除虫菊酯抗性家蝇和正常家蝇的细胞色素 P-450 含量的比较见表 7。从表中结果可看出,两种拟除虫菊酯抗性家蝇品系的细胞色素 P-450 含量均高于 NP 品系。比较它

表 5 多功能氧化酶活力——脱甲基作用

	毫微克分子/蝇/分	R/S
NP	0.0060	1.00
2Cl-R	0.0192	3.20
Dec-R	0.0211	3.52

表 6 多功能氧化酶活力——环氧化作用

	毫微克分子/蝇/分	R/S
NP	0.0068	1.00
2Cl-R	0.0134	1.97
Dec-R	0.0086	1.26

表 7 三种家蝇品系在离体条件下细胞色素 P-450 含量比较

	品 系		
	NP	2Cl-R	Dec-R
细胞色素 P-450 (O. D 450—490)	0.0596±0.0044	0.0637±0.0068	0.0762±0.0048
细胞色素 P-450 差*		0.0041±0.0066	0.0166±0.0078
细胞色素 P-450/毫克蛋白	0.0130±0.0010	0.0145±0.0030	0.0158±0.0026
细胞色素 P-450/毫克蛋白差*		0.0015±0.0028	0.0028±0.0018
蛋白含量	4.5600±0.2300	4.5200±1.0100	4.9100±0.9500

* 计算的差值是由抗性品系减去正常品系值得出

们的差值,溴氰菊酯的差值要更大些。用 2 Cl-R 和 NP 品系以及 Dec-R 和 NP 品系细胞色素含量间的差异显著性测验,在 0.001 显著机率标准为 3.2905 时,所得 t 值分别为 24.1 和 37.0,表明两种拟除虫菊酯抗性家蝇与正常品系家蝇之间差异是显著的。计算各品系家蝇的细胞色素 P-450/毫克蛋白,可得到类似结果,即抗性家蝇比正常家蝇的数值要明显升高 (t 分别为 29.6 和 66.7, $P < 0.001$)。

4. ATP 酶活性

表 8 列出了三种家蝇品系头部微粒体粗提液中 ATP 酶的活性。从总的 ATP 酶活性来看,2 Cl-R、Dec-R 和 NP 品系的 ATP 酶总活性分别为 0.359、0.306 和 0.300,以 2 Cl-R 品系为高。两种抗性品系的 Mg^{2+} -ATP 酶活性均高于 NP 品系。而 Na^{+} - K^{+} -ATP 酶活性,2Cl-R 与 NP 品系接近,Dec-R 则低于 NP 品系的 46%。

表 8 三种家蝇品系头部 ATP 酶活性比较

酶 活 性	品 系		
	NP	2Cl-R	Dec-R
ATP 酶	0.300±0.053	0.359±0.045	0.306±0.071
Na^{+} - K^{+} -ATP 酶	0.107±0.029	0.102±0.036	0.058±0.045
Mg^{2+} -ATP 酶	0.193±0.059	0.257±0.046	0.248±0.080

7 次试验结果的平均值±SE,单位为 $\mu\text{mol P}_i/\text{mg 蛋白/分}$

讨 论

在体外试验条件下,二氯苯醚菊酯抗性家蝇品系 2 Cl-R 对二氯苯醚菊酯表现抗性的机制,初步证明是由于弱的水解酯酶活性和高的多功能氧化酶活性的关系。体内试验也证实了,使用氧化酶抑制剂 (Pb) 对 2 Cl-R 家蝇可增高二氯苯醚菊酯的毒效。Scott 和 Georghiou (1986) 曾证实,用对二氯苯醚菊酯有抗性 (LD_{50} 为 130 微克/蝇) 的 Learn-py R 家蝇品系为材料,不论是用增效剂或酯酶制备物试验,结果得出对二氯苯醚菊酯的氧化代谢增强是主要的抗性机制。溴氰菊酯高抗性家蝇 Dec-R 对其选择药剂表现有较高的水解能力。Dec-R 家蝇对三种萆酯底物的酶促最大反应速度的抗性比均为 3—4 倍之多,而体内氧化酶活力与 NP 品系相比为 2。Pb 和 DEF 对溴氰菊酯均有较好的增效作用,尤以 DEF 为突出,其 SR 值为 1106,符合体外试验的结果。此外,对这种拟除虫菊酯具有抗性家蝇品系的谷胱甘肽 S-转移酶活性也曾进行过测定,但未发现与 NP 品系有何差异。因此,可以认为,二氯苯醚菊酯和溴氰菊酯在对这两种菊酯具抗性的家蝇体内的代谢,是由于多功能氧化酶和水解酶的作用所致,但是它们所占的优势又是不同的。用溴氰菊酯选择的 Dec-R 品系对溴氰菊酯的解毒抗性机制主要是酯酶活力的增高,而用二氯苯醚菊酯选择的 2 Cl-R 品系,对二氯苯醚菊酯的氧化酶活力的增大是主要的抗性机制。Holden (1979) 在用二氯苯醚菊酯和氯氰苯醚菊酯进行的昆虫体内代谢研究表明,化合物异构体和昆虫种的不同,氧化和水解代谢以及穿透作用也不同。因此,不同的增效剂可用于增加不同种类的拟除虫菊酯的生物活性。而这些拟除虫菊酯的药效,又依赖于昆虫的种类和它们的显性解毒机制。

Hodgson (1983) 和沈建华等 (1986) 报道了增加氧化代谢的抗性昆虫品系体内氧化酶活性与细胞色素 P-450 之间的相关性。多功能氧化酶系统在自然条件下是呈循环状态,至少有两种增加氧化活性的途径:一种是通过细胞色素 P-450 在质和量上的改变;另一种是通过电子-传递酶的增加。在细胞色素 P-450 质的变化方面,目前尚无令人信服证明,但是量的增加,则可能加强该系统的携带能力,而电子传递酶系的增加,则可加快氧化酶系的传递速度。正如本试验证明的,2 Cl-R 和 Dec-R 品系的抗性确是由于不同水平的多功能氧化酶活性的关系,并与细胞色素 P-450 之间具有相关性。对两种拟除虫菊酯具高抗性的家蝇品系与氧化酶活性的关系,尚需进一步测定电子传递酶系-NADPH-细胞色素 C 还原酶和细胞色素 b_5 的活力。此外,还需考虑到选择剂氧化代谢的不同分子部位。Scott 等 (1986) 认为,拟除虫菊酯化学结构的变化,会影响到氧化代谢的酶促反应以及抗性水平。与多功能氧化酶有关的抗性是苯氧基苯部位上的氧化反应,这可能是重要的。

如果 ATP 酶与杀虫剂的毒杀作用或对后者的抗性有关的话,那么它们就可能与敏感家蝇的有差别。如在 ATP 酶活性方面的差别或在对抑制作用的敏感性方面的差别。本研究的 ATP 酶活性试验结果与 Patil 等 (1980) 的相符。他们对抗性和感性家蝇品系的 ATP 酶活力及 DDT 等药剂对此酶的抑制作用研究证明了, Mg^{2+} -ATP 酶对 DDT 的抑制作用敏感,可能说明它是 DDT 的一个重要靶标部位。而 Na^+ - K^+ -ATP 酶对 DDT 的抑制作用不太敏感,但还不能就此认为这就是不敏感性的抗性机制。由于

DDT 与拟除虫菊酯的毒理机制十分相似,都是轴突毒剂,因此可认为, Mg^{2+} -ATP 酶也是拟除虫菊酯的靶标部位之一。Ghiasuddin 等 (1982) 曾观察到,拟除虫菊酯对 ATP 酶抑制的敏感性程度是与生物种类、组织和 ATP 酶等的不同而有差别。二氯苯醚菊酯可增强对 ATP 酶的抑制作用,特别是对 Ca^{2+} -ATP 酶的抑制。

特别明显的差别表现在两种拟除虫菊酯抗性家蝇品系对上列两种拟除虫菊酯的表皮穿透速度上。溴氰菊酯的穿透速率比二氯苯醚菊酯慢得多。本研究证明,表皮穿透速度的降低,明显的是对拟菊酯产生抗性原因之一。再伴随着上述的多功能氧化酶和酯酶活性的增加以及靶标部位 Mg^{2+} -ATP 酶活力的升高等机制,从而构成了抗性家蝇品系对两种拟除虫菊酯的高抗性水平。

参 考 文 献

- 冯北元、徐慕禹 1981 大鼠脑突触体 (Na-K)ATPase 活力的微量测定方法。生物化学与生物物理进展 2: 40。
 沈建华、姜家良 1986 淡色库蚊幼虫微粒体细胞色素 P-450 与杀虫剂结合光谱研究。科学通报 12: 945。
 袁家珪、孙耘芹、冯国蓍、祝平、龚坤元 1987 家蝇中乙酰胆碱酯酶、羧酸酯酶和多功能氧化酶活性和抗药性的关系。昆虫学报 30(2): 126。
 Farnham, A. W. 1973 Genetics of resistance of houseflies (*Musca domestica* L.) to pyrethroids. *Pestic. Sci.* 4: 513.
 Ghiasuddin, S. M., Kawauchi, S., Matsumura, F. & Doherty, J. D. 1982 Role of phospholipids in the inhibitory action of DDT permethrin on the nerve ATPases of lobster, *Homarus americanus*. *Biochem. Pharmacol.* 31: 1483.
 Hodgson, E. 1983 The significance of cytochrome P-450 in insects. *Insect Biochem.* 13: 237.
 Holden, J. S. 1979 Adsorption and metabolism of permethrin and cypermethrin in the cockroach and the cotton-leafworm larvae. *Pestic. Sci.* 10: 295.
 Jenner, D. W. & John F. D. 1976 Properties of the housefly head sodium- and potassium-dependent adenosine triphosphatase. *Insect Biochem.* 6: 561.
 Kulkarni, A. P. & Hodgson, E. 1975 Microsomal cytochrome P-450 from the housefly, *Musca domestica*: Assay and spectral characterization. *Insect Biochem.* 5: 679.
 Lowry, D. H. et al 1951 Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 265.
 Murry, D., & Cull, P. 1984 Australian Cottongrower Feb-Apr. p. 22.
 Omura, T. & Sato, R. J. 1964 The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. *Biol. Chem.* 239: 2370.
 Patil, T. N., Anwar-Saad A., Abd-EL-Fattah, Plapp, F. W. & Koch R. B. 1980 ATPase and dehydrogenase activities from houseflies susceptible and resistant to organochlorine insecticides. *Pestic. Biochem. Physiol.* 13(5): 5.
 Plapp, F. W., & Casida, J. E. 1969 Genetic control of housefly NADPH-dependent oxidases: Relation to insecticide chemical metabolism and resistance. *J. Econ. Entomol.* 62: 1174.
 Rosenberry, T. L. & Bernhard, S. A. 1972 Studies of catalysis by acetylcholinesterase. Synergistic effects of inhibitors during the hydrolysis of acetic acid esters. *Biochemistry* 11: 4308.
 Scott, J. G. & Geoghiau, G. P. 1986 Mechanisms responsible for high levels of permethrin resistance in the housefly. *Pestic. Sci.* 17(3): 195.

THE RESISTANCE MECHANISM OF HOUSEFLY AGAINST PYRETHROIDS

SUN YUN-QIN YUAN JIA-GUI LI JING HE FENG-QIN

LIU BAO-WEN WANG JING GONG KUN-YUAN

(Institute of Zoology, Academia Sinica, Beijing)

The resistance mechanism of permethrin- and deltamethrin-selected high resistant strains (2Cl-R and Dec-R) of the house fly *Musca domestica vicina* was investigated through bioassay, use of different synergists, *in vivo* test of cuticular penetration and studies on the activities of detoxification enzymes and ATPase. It was found that the cuticular penetration of permethrin was slower in the two resistant strains than in the normal susceptible strain (NP), and the lag was more conspicuous in the Dec-R strain. The activities of esterases, mixed function oxidases and cytochrome P-450 were higher in the resistant strains. It was discernible that the major resistance mechanism was the MFO-mediated detoxification in the 2Cl-R strain and the esterase activity was higher in the Dec-R strain when compared with the NP strain. The $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity was 46% lower in the Dec-R strain when compared with the susceptible strain, but the difference between the 2Cl-R and NP strains was not conspicuous. The activity of $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ was higher in the two resistant strains than in the NP strain. It is proposed that $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ may be also an important target site for pyrethroid action.

Key words *Musca domestica vicina*—insecticide resistance—esterase—mixed function oxidase—cytochrome P-450—cuticular penetration